

Symposium der Arbeitsgemeinschaft der gerichtlichen Blutgruppensachverständigen

in der Bundesrepublik Deutschland

gemeinsam mit der "Deutschsprachigen Arbeitsgruppe" in der Internationalen Gesellschaft für Forensische Hämogenetik e. V.
vom 18. - 20. Oktober 1990 in Würzburg

Kurzfassungen der Vorträge

Biostatistische Auswertung von DNA-Bandenmustern in Fällen strittiger Identität oder Blutsverwandtschaft

K. Hummel,
Institut für Blutgruppenserologie,
Postfach 880, 7800 Freiburg

Bei **strittiger Identität** empfiehlt es sich, eine Identitätswahrscheinlichkeit auszurechnen:

$$W_i (\text{SLS, Banden } A, B) = 1 / [1 + 2f(A)f(B)];$$

$f(A)$ = Frequenz von Bande A,
 $f(B)$ = Frequenz von Bande B.

$$W_i (\text{SLS, nur Bande A}) = 1 / [1 + f(A)^2];$$
$$W_i (\text{MLS}) = a^i; \quad a = \text{mittlere Bandenfrequenz};$$

i = Zahl übereinstimmender sichtbarer Banden.

Will man bei MLS-Bandenmustern auch die nicht sichtbaren Banden mit berücksichtigen, gilt

$$W_i (\text{MLS}) = 1 / [1 + a^i(1-a)^{N_{\text{eff}}-i}];$$

$N_{\text{eff}} = n/a$; n = mittlere Anzahl Banden pro Person; $a = n/N$;
 N_{eff} = Anzahl der von der Sonde erfaßten Banden (ausgezählt).

Indem die Abhängigkeit der Banden wegen Zugehörigkeit zu gemeinsamen Loci nicht berücksichtigt ist, erhält man gegenüber der Realität in aller Regel etwas zu niedrige $W_i(\text{MLS})$ -Werte.

Bei **strittiger Blutsverwandtschaft** kann das Band-sharing-Verfahren zu Fehlinformationen führen,

- a) weil die Bandenfrequenz nicht berücksichtigt wird,
- b) weil im Terzettenfall die Mutter nicht miteinbezogen ist,
- c) weil evtl. Verwandtschaftsbeziehungen zwischen den Beteiligten (Mutter-PV; PV-MV; Mutter-MV u.a.) außer Betracht bleiben,
- d) weil Extrabanden beim Kind nicht mit eingerechnet werden können.

Zur Auswertung von **Defizienzfällen** eignet sich das Verfahren überhaupt nicht.

Statt der Band-sharing-Methode benutzt man für SLS-Bandenmuster den Ansatz von *Essen-Möller* bzw. - in komplizierten Fällen - den Kinship-Algorithmus von *Ihm* und *Hummel* (1975); auf MLS-Bandenmuster wendet man das Modell der multiplen Diallelie (von Hummel et al. 1989) an und wertet unter Benutzung der Essen-Möller-Formel bzw. des Kinship-Algorithmus aus. Die so erhaltenen W-Werte sind wegen nicht berücksichtigter partieller Abhängigkeit der Banden im Vergleich zur Realität in aller Regel etwas zu niedrig.

Literatur:

- Essen-Möller E.: Mitt. Anthropol. Ges. (Wien) 68, 9-53 (1938)
Ihm P. und Hummel K.: Z. Immun. forsch. 149, 405-416 (1975)
Hummel K. et al.: Adv. Forens. Haemogen. 3, 17-22 (1990)

Methodische Probleme bei der biostatistischen Auswertung von DNA-Befunden

R. Fimmers, M. P. Baur,
Institut für Medizinische Statistik, Dokumentation und
Datenverarbeitung der Universität Bonn

DNA-Polymorphismen entstehen im wesentlichen durch das Zusammenwirken einer DNA-Sonde und eines Restriktionsenzym. Interessant für die Abstammungsbegutachtung sind dabei Polymorphismen, die durch die unterschiedlich häufige Wiederholung einer mehr oder weniger gleichen Basensequenz entstehen. Diese sogenannten VNTRs haben einen sehr hohen Polymorphiegrad. In Abhängigkeit von der Eigenschaft der benutzten Sonde, an einer oder an mehreren Stellen im menschlichen Genom zu hybridisieren, unterscheidet man zwischen genortspezifischen Sonden (SLP, single locus probes) und den MLPs (multi locus probes). Aus methodischer Sicht lassen sich die SLPs wesentlich einfacher behandeln als die MLPs, da Probleme, die bei der Auswertung von SLPs auftreten, in natürlicher Weise auch Problem der MLPs sein müssen.

Ein SLP kann wie ein Genort mit einem kodominanten Erbgang behandelt werden. Das einzige Problem besteht darin, die Frequenzen der unterschiedlichen Fragmente abzuschätzen. Um dies sinnvoll machen zu können, ist es notwendig, die Messung der Fragmentlängen reproduzierbar zu gestalten. Wenn Populationsfrequenzen von mehreren Laboratorien benutzt werden sollen, ist es notwendig, die Vergleichbarkeit der Fragmentlängenbestimmungen zwischen den einzelnen Laboratorien sicherzustellen. Neben der Standardisierung der Meßmethode bieten hier Transformationsverfahren, die die Lauflängen der Fragmente mit Hilfe von molekularen Gewichtsmarkern in KB-Werte umrechnen, ein wichtiges Hilfsmittel.

Die Probleme, die im Zusammenhang mit den MLPs diskutiert werden, liegen auf einer anderen Ebene. Hier ist schon die Methode, nach der eine Vaterschaftsentscheidung getroffen wird, fraglich. Offensichtlich haben MLPs einen sehr hohen Informationsgehalt. Eine qualitative Entscheidung für oder gegen Vaterschaft ist im einfachsten Fall leicht zu treffen. Man kann versuchen, solche Entscheidungsstrategien zu formalisieren. Stichworte sind hier "Anzahl von Ausschlußbanden" und "Bandsharing". Schwieriger wird es, wenn bei Nichtausschluß die Vaterschaftsplaussibilität durch statistische Kenngrößen beschrieben werden soll. Das prinzipielle Problem liegt darin, daß die Zusammensetzung der MLPs (aus SLPs) normalerweise nicht bekannt ist. Damit läßt sich die Genetik nicht formal beschreiben. Um zu Zahlenwerten zu kommen, ist es notwendig, vereinfachende Annahmen zu machen. Methoden, wie sie von *Ewelt* und *Hummel* vorge schlagen werden, nehmen die Unabhängigkeit der einzelnen Banden des zu einem MLP gehörigen Bandenmusters an. Das bedeutet implizit, daß die Banden an verschiedenen Positionen nicht von einem Genort und nicht von gekoppelten Genorten stammen dürfen. Zusammen mit der Abschätz-

zung einer globalen Bandenfrequenz und der Auswertung "leerer" Bandenpositionen führen diese Vorgehensweisen zu Ergebnissen (W-Werten, Vaterschaftsindices), die von den wahren Werten in nicht kontrollierter Form abweichen.

Biostatistische Analyse der Multilocus Minisatelliten DNA Sonde MZ 1.3*

P. M. Schneider¹, R. Fimmers², Ulrike Schacker¹, Ch. Rittner¹

¹Institut für Rechtsmedizin, Am Pulverturm 3, 6500 Mainz

²Institut für Medizinische Statistik, Sigmund-Freud-Str. 25, 5300 Bonn 1

Die Minisatelliten-DNA-Sonde MZ 1.3 erkennt hypervariable genomische Restriktionsfragmentmuster zur Darstellung des sog. "genetischen Fingerabdrucks". Sie ist sowohl zur Abstammungsbegutachtung als auch zur Untersuchung von Blut- und Spermaspuren bei forensischen Fragestellungen geeignet. Die Sonde kann sowohl radioaktiv mit ³²P als auch nichtradioaktiv im Digoxigenin-System (B.E.S.T. Probe MZ 1.3) verwendet werden.

Zur Etablierung der biostatistischen Grundlagen von MZ 1.3 und zur Überprüfung der Verwendbarkeit in Abstammungsfällen wurde eine populationsgenetische Studie zusammen mit elf Laboratorien durchgeführt. Ziel der Studie war u. a. die Feststellung der Mutationsrate pro Meiose, die Bestimmung der Häufigkeit von Fragmenten in den verschiedenen Größenklassen, die Feststellung der durchschnittlichen "band sharing"-Frequenzen für Verwandte und Unverwandte sowie eine Abschätzung der Anzahl beteiligter Genorte. Es wurden mit der Digoxigeninmarkierten Sonde über 1500 Einzelpersonen typisiert, überwiegend aus Abstammungsfällen und aus Großfamilien. Die Ergebnisse wurden durch Ablesung der jeweiligen Fragmentpositionen erfaßt und mittels Computeranalyse statistisch ausgewertet. Die Ergebnisse werden zur Verbesserung der Standardisierung von Methoden und Musterinterpretation beitragen und die Grundlagen zur Verwendbarkeit von Multilocus-Sonden in Abstammungsfällen etablieren.

Literatur:

Holtkamp B., Bohnke E., Schacker U., Sonneborn H. H. (1990) Non-isotopic DNA fingerprint analyses with the minisatellite probe MZ 1.3. *Advances in Forensic Haemogenetics* 3 (eds.: H. P. Polesky, W. R. Mayr), Springer Berlin Heidelberg, pp. 133-135.

Ogata M., Mattern R., Schneider P. M., Schacker U., Kaufmann T., Rittner Ch. (1990) Quantitative and qualitative analysis of DNA extracted from postmortem muscle tissues. *Z. Rechtsmed.* 103: 397-406.

Rittner Ch., Schacker U., Rittner G., Schneider P. M. (1989) DNA polymorphisms in paternity testing: chances, risks and strategies. *Biostat Bull.* 4: 27-33.

Schacker U., Schneider P. M., Holtkamp B., Bohnke E., Fimmers R., Sonneborn H. H., Rittner Ch. (1990) Isolation of the DNA minisatellite probe MZ 1.3 and its application to DNA "fingerprinting" analysis. *Forensic Sci. Int.* 44: 209-224.

Schneider P. M., Schacker U., Braunbeck K., Breidbach T., Rittner G., Holtkamp B., Rittner Ch. (1990) Minisatellite DNA probe MZ 1.3: application in paternity testing and estimate of the number of genetic loci. *Advances in Forensic Haemogenetics* 3 (eds.: H. P. Polesky, W. R. Mayr), Springer Berlin Heidelberg, pp. 130-132.

*Mit Unterstützung der Fa. Biotest AG, Dreieich

*Die Teilnehmer waren: G. Berghaus, M. Prinz, Köln; J. Bertrams, Essen; P. Birkner, E. Osterhaus, Duisburg; B. Brinkmann, S. Rand, Münster; U. Bulnheim, Rostock; M. Feuerbach, W. Schwerd, Würzburg; L. & J. Henke, Düsseldorf; W. Weber, Köln; E. Iten, R. Pflughaupt, Bern; Ch. Rittner, Mainz; E. Simeoni, Kiel

Populationsgenetische Untersuchungen mit 5 locuspezifischen DNA-Minisatelliten

L. Henke, J. Henke, K. Hoffmann, S. Cleef, M. Zakrzewska, I. Kops
Institut für Blutgruppenforschung,
Otto-Hahn-Str. 39, 4000 Düsseldorf 13

Mit Hilfe der Sonden MS1, MS31, MS43, G3 und YNH24 wurden Hinf-Polymorphismen der Loci D1S7, D7S21, D12S11, D7S22 und D2S44 untersucht.

In den jeweiligen Enzym/Sonden-Kombinationen wurden ca. 1500 - 2300 Restriktionsfragmente dargestellt, deren Größe (in Kilobasenpaaren) gemessen sowie die Häufigkeitsverteilung ermittelt. 600 - 750 Meiosen konnten analysiert und die jeweiligen Mutationsraten errechnet werden. Der parallele Einsatz dieser locuspezifischen DNA-Sonden neben den üblichen konventionellen Blutgruppensystemen ermöglichte u. a. die praktische Ermittlung der fälschlicherweise nichtausgeschlossenen Nichtväter. Sie betragen für

MS1	3,8 %
MS31	7,8 %
MS43	6,6 %
G3	2,8 % und
YNH24	6,3 %

Bei Verwendung aller 5 Sonden beträgt demnach die Anzahl der nicht erkannten Nichtväter 0,00003 % oder 3 in 10 Millionen.

Der eindeutige autosomal-kodominante Erbgang dieser Polymorphismen gestattet andererseits eine Quantifizierung der sog. Vaterschaftswahrscheinlichkeit nach den bisher üblichen Regeln des Essen-Möller-Verfahrens.

Interessante Ergebnisse von DNA-Analysen bei Gutachtenfällen mit isolierten Ausschlüssen (P- bzw. Duffy-System) im erweiterten serologischen Gutachten

J. Bertrams, U. Hintzen, D. Padeberg, A. Mirmesdagh, B. O. Böhm, P. M. Schneider, Ch. Rittner, P. Birkner, E. Osterhaus
Essen/Frankfurt/Mainz/Duisburg

Bei zwei Gutachtenfällen lagen nach weitestgehender Ausschöpfung bestehender serologischer Untersuchungsmöglichkeiten (20 Systeme incl. HLA) isolierte Ausschlußkonstellationen im Duffy- bzw. P-System vor.

Der W-Wert lag unter Berücksichtigung der restlichen Systeme bei 99,95 bzw. 99,997 %. Weiterführende DNA-Analysen (HLA-Gene, Insulin-Gen, Minisatelliten) führten einerseits zum eindeutigen Ausschluß der Putativ-Väter. Andererseits gab die deutlich erhöhte Rate gemeinsamer DNA-Fragmente zwischen Kindesmutter und Putativ-Vater (Inzest-Fall) bzw. zwischen Kind und Putativ-Vater im sog. DNA-Fingerprinting einen starken Hinweis auf eine mögliche Verwandtschaft zweiten Grades zwischen diesen Personen. In beiden Fällen existierten Brüder der untersuchten Putativ-Väter.

Kurzgutachten in der Ehelichkeitsanfechtung

M. Muche, W. Martin, H. H. Hoppe,
Institut für Blutgruppenserologie und Genetik,
Holsteinischer Kamp 67, 2000 Hamburg 76

Abgekürzte Abstammungsgutachten (*Kurzgutachten*) werden seit etwa fünf Jahren eingesetzt, um in Fällen, in denen die prozessuale Lage eindeutig zu sein scheint, die Kosten möglichst gering zu halten, ohne auf den hohen Beweiswert eines Gutachtens verzichten zu müssen. In ein Kurzgutachten aufgenommen wird eine begrenzte Zahl von Systemen (hier: ABO, MNSSs, Rh, Fy, Jk, Gc Subtyp., C3, SEP und PGM Subtyp.) mit einem möglichst günstigen Verhältnis aus Kosten und der allgemeinen Ausschließungschance AVACH (hier AVACH > 0.9). An die Inauftraggabe von Kurzgutachten sind strenge Indikationen zu stellen: 1. Die übereinstimmende Erklärung von Kindesmutter und Mann, daß dieser nicht der Erzeuger des Kindes ist, und 2. die Bereitschaft der Erwachsenen, sich erforderlichenfalls ein zweites Mal Blut entnehmen zu lassen, falls aus organisatorischen Gründen die Untersuchung aus verwahrten Proben nicht möglich ist. Bei dem Kind werden anlässlich der ersten Entnahme bereits alle Systeme untersucht.

Diese Untersuchung hat zwei **Ziele**: Zum einen eine Überprüfung der Leistungsfähigkeit eines Kurzgutachtens in der Praxis an einem größeren Kollektiv von Gutachten und, daraus abgeleitet, die Beantwortung der Frage, ob die *übereinstimmende* Aussage der Prozeßbeteiligten sich als so zutreffend erwiesen hat, daß über die Notwendigkeit von Gutachten in Anfechtungsverfahren überhaupt nachgedacht werden kann.

Als **Untersuchungsmaterial** dienen 265 Kurzgutachten (Januar 1986 bis April 1990), die auf ihr Ergebnis hin untersucht wurden. Von besonderem Interesse sind hier zunächst die Fälle, in denen allein aufgrund des Kurzgutachtens ein voll beweiskräftiger Ausschluß (mind. 2 ausschließende Systeme) festgestellt werden konnte, und die Fälle, in denen in weiterführenden Gutachten die Vaterschaft positiv festgestellt werden konnte. Da bei der Annahme der Gutachtenaufträge auf die Einhaltung der eingangs erwähnten Voraussetzungen geachtet wurde, kann diese Häufigkeit tatsächlich als Gradmesser für die Richtigkeit der Aussage der Prozeßbeteiligten dienen.

Ergebnisse: In 67,2 % aller Fälle wurde die Nichtvaterschaft durch das Kurzgutachten eindeutig festgestellt. In 23 % fanden sich isolierte Ausschließungen, die die Aussagen weiter stützen. Von diesen Fällen wurde nur etwas über die Hälfte einer weiteren Begutachtung unterzogen. In insgesamt 17 Fällen (6,4 %) wurden Ausschließungen erst im weiterführenden Gutachten erkannt. In 3 Fällen lieferte das Kurzgutachten keinen Ausschluß bei (relativ) hohen W-Werten von ca. 96 - 99,5 %, während in weiteren 6 Fällen der *positive Vaterschaftsbeweis* im weiterführenden Gutachten erbracht werden konnte.

Auswertung: Die Gesamthäufigkeit an festgestellten Ausschließungen liegt bei 96,6 %. Damit ist zunächst ein Kurzgutachten in der überwältigenden Mehrheit der Fälle als berechtigt anzusehen: Die Aussagen wurden untermauert. 77 % aller Fälle wurden nach Einholung eines Kurzgutachtens entschieden. Dieser Wert rechtfertigt den Einsatz des Kurzgutachtens im Sinne einer ökonomischen Prozeßführung - die übrigen 23 % wurden einer weiterführenden Begutachtung unterzogen. In immerhin 6 Fällen konnte die Vaterschaft positiv festgestellt werden. Die Häufigkeit der Fälle, in denen nicht antragsgemäß entschieden wurde, liegt also zwischen 2,3 und 3,4 % (einschl. 3 Fällen ohne Ausschluß mit hohem W). *Es läßt sich damit feststellen, daß Gutachten in Ehelichkeitsanfechtungsverfahren unverzichtbar sind.* Das Kurzgutachten bietet hier die Möglichkeit der Kostenminimierung ohne Verlust an Beweiswert.

Ein Beitrag zum sog. Kurzgutachten in Anfechtungsfällen

W. Stangel, D. Stangel
Hannover

Die Erstattung von Vaterschaftsgutachten erfährt häufig dadurch eine wesentliche Verzögerung, daß die Beteiligten der Aufforderung zur Blutentnahme nicht Folge leisten.

Aus dieser Sicht wurde bei 311 Anfechtungsverfahren retrospektiv überprüft, wie viele erneute Einbestellungen der Beteiligten zur Blutentnahme die Anwendung eines sog. Kurzgutachtens unter dem Einsatz der Systeme ABO, MNSSs, Rh, Fy, Jk, Gc-IEF, C3, SEP und PGM-IEF zur Folge gehabt hätte.

Bei 46 von insgesamt 172 Ausschlußkonstellationen wären diese in 2 und mehr Merkmalssystemen erst nach einer erneuten (zweiter) Blutentnahme bei allen Beteiligten festgestellt worden, davon in 7 Verfahren erst nach einer dritten Blutentnahme (Einbeziehung der HLA-Merkmale).

In 87 Verfahren von insgesamt 139 Anfechtungen, in welchen die Vaterschaft letztlich erwiesen wurde, hätte bei Anwendung des sog. Kurzgutachtens ein aussagekräftiges Ergebnis erst nach erneuter (zweiter) Blutentnahme bei allen Beteiligten erarbeitet werden können, in 52 Verfahren hätten die Beteiligten ein drittes Mal zur Blutentnahme einbestellt werden müssen (Ergänzung der HLA-Merkmale).

Die Anwendung eines sog. Kurzgutachtens bei insgesamt 311 Vaterschaftsanfechtungen hätte in 185 Verfahren (59,49 %) kein aussagekräftiges Ergebnis gebracht und bei allen Beteiligten wäre eine erneute (zweite) Blutentnahme erforderlich gewesen.

In 59 Verfahren (18,97 %) hätten alle Beteiligten ein drittes Mal einbestellt werden müssen (Ergänzung der HLA-Merkmale).

Bei der Erstattung eines sog. Basisgutachtens, das a priori 26 Erbmerkmalssysteme einbezieht, wurde in 81 % aller Verfahren bereits nach einmaliger Blutentnahme ein aussagekräftiges Ergebnis (Ausschluß oder Vaterschaft biostatistisch erwiesen) erarbeitet, nur in 18,97 % war eine zweite Einbestellung zur Einbeziehung der HLA-Merkmale erforderlich.

DER-CONGRESS wird zum

16th World Congress of Anatomic and Clinical Pathology

Vancouver/Kanada, vom 22. bis 27. Juni 1991

ein günstiges Reiseangebot anbieten.

Darüber hinaus bieten verschiedene Anschlußreisen Gelegenheit, Land und Leute ein wenig kennenzulernen.

Wenn Sie mehr über unser Angebot erfahren möchten, fordern Sie doch einfach unseren ausführlichen Reiseprospekt an bei:

Deutsches Reisebüro GmbH
DER-CONGRESS
711/Md
Postfach 10 07 01
6000 Frankfurt 1

Zur Problematik des sog. Kurzgutachtens bei Ehelichkeitsanfechtungsklagen

J. Bertrams
Essen

200 Gutachten zu Ehelichkeitsanfechtungsklagen der letzten Jahre wurden retrospektiv chronologisch auf die Aussagefähigkeit eines sog. Kurzgutachtens unter Berücksichtigung der Merkmale ABO, Rh, Fy, Jk, Gc, C3, SEP und PGM analysiert.

>2 vollwertige Ausschlüsse fanden sich in lediglich 18 %, ein vollwertiger Ausschuß in weiteren 26 %. Hinweis auf Nichtvaterschaft aufgrund einer oder mehrerer entgegengesetzter Reinerbigkeiten fand sich in weiteren 7 %. In weiteren 8,5 % fanden sich ein- oder mehrere vollwertige Ausschlüsse lediglich im erweiterten Gutachten, in 0,5 % ausschließlich im HLA-Antigen System. Zu keinem Ausschuß im erweiterten Gutachten einschließlich HLA-Gutachten führten die Untersuchungen in 40 % der Fälle. In diesen Fällen konnte die Vaterschaft eindeutig nachgewiesen werden.

Somit hätte das o. g. Kurzgutachten in lediglich 44 % einen bzw. zwei Ausschlüsse erbracht. In 59,1 % dieser Gutachten wurde ein erweitertes Gutachten erforderlich, um mindestens zwei vollwertige Ausschlüsse zu erreichen.

Diese Zahlen spiegeln das Verhalten zahlreicher Richter wider, bei prozessual eindeutiger Sachlage, d. h. bei entsprechender und übereinstimmender, für den Richter glaubhafter Erklärung aller Prozeßbeteiligten, auf ein Gutachten zu verzichten.

Die generelle Empfehlung bzw. Einführung eines Kurzgutachtens erscheint aus diesem Grunde wenig sinnvoll.

Anmerkungen zum "erweiterten" Blutgruppengutachten

D. Kasulke, Th. Dengler,
DRK-Blutspendezentrale Baden-Baden

Entsprechend den neuen Richtlinien (seit 15. 3. 1990) des Bundesgesundheitsamtes müssen 16 verschiedene Merkmalsysteme bei der Erstattung von Blutgruppengutachten berücksichtigt werden. Hierbei handelt es sich um Mindestanforderungen.

Mehr als 50 Blutgruppengutachten aus dem Jahr 1990 sind von uns nach ihrer Aussagekraft statistisch ausgewertet worden.

Unabhängig davon, ob der in die Begutachtung einbezogene Mann Kläger, Beklagter oder Zeuge ist, können in 58 % der Fälle die Männer nicht von der Vaterschaft ausgeschlossen werden, in 42 % erfolgt ein Ausschuß.

In Nichtehelichkeitsfällen können 66 % aller untersuchten Männer nicht ausgeschlossen werden, während 34 % von der Vaterschaft auszuschließen sind.

In Anfechtungsfällen beträgt die Ausschußrate der involvierten Männer 80 %, während 20 % hier nicht von der Vaterschaft ausgeschlossen werden können.

Die Probanden werden von uns im "erweiterten" Blutgruppengutachten in 27 - 30 Blutgruppensystemen einschließlich Anwendung der Subtypisierung mittels isoelektrischer Fokussierung untersucht.

In Nichtausschuß- und in Ausschußfällen wird die Effizienz der "erweiterten" Gutachten (= A) mit derjenigen der Norm-

(= Basis-/Standard-)Gutachten (= B) (16 Systeme) und der Kurzgutachten (= C) (9 Systeme) verglichen.

1990
NICHTAUSSCHLÜSSE

W (%)	A	B	C
≥ 99,73 %	87 %	33 %	13 %
≥ 99 %	7 %	30 %	27 %
≥ 95 %	3 %	23 %	40 %
≥ 90 %	3 %	0 %	3 %
< 90 %	0 %	14 %	17 %

1990
AUSSCHLÜSSE

Anzahl der Ausschlüsse	A	B	C
< 2	0 %	31,8 %	27,3 %
2	13,6 %	27,3 %	31,8 %
3	18,2 %	22,7 %	27,3 %
4	27,3 %	9,1 %	13,6 %
5	9,1 %	9,1 %	-
6	18,2 %	-	-
7	9,1 %	-	-
8	4,5 %	-	-

Bei allen in Kolumne A aufgeführten Nichtausschußfällen sind zwischen W = 90 % und W = 99 % zusätzliche HLA-Typisierungen vorgenommen worden; in sämtlichen Fällen wurde anschließend die Drei-Sigma-Grenze von W=99,73 % überschritten, so daß die Vaterschaft in allen Fällen "praktisch erwiesen" ist. - In Ausschußfällen sind als Minimum 2, als Maximum 8 Ausschlüsse festgestellt worden.

Damit ist das "erweiterte" Blutgruppengutachten - ggfs. in Verbindung mit zusätzlichen HLA-Merkmalbestimmungen - im Gegensatz zu Norm- und Kurzgutachten ein hochgradig effizientes Beweismittel für oder gegen Vaterschaft und kann sowohl in Nichtausschuß- als auch in Ausschußfällen eine eindeutig verwertbare richterliche Überzeugung vermitteln, so daß zur Untersuchung von DNS-Polymorphismen zur Zeit keine dringende Notwendigkeit besteht.

Verwandte Probanden in HLA-Ergänzungsgutachten

H. Waltz, G. Geserick
Berlin

Der hohe Beweiswert von HLA-Untersuchungen in der Paternitätsbegutachtung ist unumstritten. Das HLA-System hat

sich bei komplizierten Fällen besonders gut bewährt. Es wird über die Effizienz von HLA-Untersuchungen bei 46 Ergänzungsgutachten mit insgesamt 103 Präsumptivvater-Kind-Konstellationen berichtet.

In 24 Fällen handelt es sich bei den in die Begutachtung einbezogenen Kindern um Zwillinge bzw. Geschwister; bei weiteren 22 Fällen waren sowohl Vater und Sohn als auch Brüder (z. T. Zwillinge) der Vaterschaft bezichtigt worden.

Insgesamt wurden 38 Vaterschaftsausschlüsse durch das HLA-System bzw. auch durch zusätzlich in die Untersuchung einbezogene Systeme analysiert. Von den 65 Nichtausschlüssen erreichten 47 das Prädikat "Vaterschaft praktisch erwiesen" in der verbalen Interpretation nach *Hummel*.

ID-Microtyping System in der praktischen Anwendung

A. Arndt-Hanser,
Hochhaus Augustusplatz, 6500 Mainz/Rhein

Die Gelmethode (ID-Microtyping System DIAMED) ist neben den herkömmlichen Methoden eine echte Alternative zur Bestimmung von erythrozytären Blutgruppenantigenen. Sie besticht durch ihre einfache schnelle Handhabung sowie ihre klaren Reaktionsergebnisse, für deren Ablesung kein Aufschütteln erfolgt und bei der, auch wenn erst nach Stunden abgelesen wird, das Reaktionsmuster erhalten bleibt. Negativ ist eine Reaktion, wenn alle Erythrozyten das Gel durchwandert und sich am Boden des Gelröhrchens als roter Knopf abgesetzt haben. Positiv ist eine Reaktion, wenn die Agglutinate als roter Strich auf dem Gel oder aber Agglutinate im Gel verteilt sichtbar sind. Letzteres ist vorwiegend bei der Bestimmung der coombsreaktiven Antigene der Fall. Aus der serologischen Laborroutine wurden Reaktionsbilder der folgenden Blutgruppenbestimmungen demonstriert: ABO, D, Serumgegenprobe, Rh-Untergruppen, Kell, Duffy (ab), Kidd (ab), Lutheran (ab), P1, MNSS, Cellano, Kp (ab).

Unspezifische Reaktionsausfälle, bedingt durch Antikörper im Probandenserum oder dem verwendeten Antiserum, wurden diskutiert und die Klärung durch die Antikörperbestimmung mittels der Liss-Coombskarte oder Enzymkarte aufgezeigt. Besonders zu beachten ist, daß bei der Bestimmung coombsreaktiver Blutgruppenantigene Duffy, Kidd usw. nur Testseren, die keine Begleitantikörper enthalten, verwendet werden dürfen, da diese bei der sensitiven Gelmethode das spezifische Reaktionsergebnis verfälschen können. Daher muß ein nicht für das ID-System deklariertes Testserum erst auf Begleitantikörper und hinsichtlich der geeigneten Verdünnung ausgetestet werden, um einwandfreie Ergebnisse zu erzielen.

In Kürze werden auch für die Bestimmung der coombsreaktiven Blutgruppenantigene Gelkarten verfügbar sein, in denen auch das jeweils spezifische Antiserum enthalten ist, so daß nur die im vorgeschriebenen Diluent aufgeschwemmten Erythrozyten des Probanden in die Gelröhrchen getropft werden müssen. Damit wird die Bestimmung vieler Blutgruppenantigene in einem Ansatz also noch weniger arbeitsintensiv und noch zeitsparender möglich. Ein wesentlicher Vorteil der Gelmethode ist die Zeitunabhängigkeit für die Ablesung der Reaktionsergebnisse.

An der Brauchbarkeit der Gelmethode zur Bestimmung von Blutgruppenantigenen und für die Erfassung von Antikörpern besteht kein Zweifel. Gute Ergebnisse erfordern allerdings ebenso wie bei den herkömmlichen Methoden exaktes Arbeiten.

Über den Aufbau des Rh-Genkomplexes

W. Helmbold
Meckesheim

Eine theoretische Arbeit aus dem Jahre 1959 wird mit den inzwischen gefundenen Daten verglichen. Es zeigt sich, daß die seinerzeit aufgrund des damaligen Wissensstandes aufgestellte Hypothese auch heute noch zu halten ist und die Befunde der letzten Jahre zwanglos in das System einzuordnen sind.

Insbesondere gilt dies auch für die Strukturen, die zu den sogenannten Kategorien der D-Antigene führen.

Es wird erläutert, warum auch heute noch die Annahme als richtig gelten kann, daß der Rh-Genkomplex als eine kontinuierliche Reihe von genetischen Informationsbereichen im Sinne der DNS-Strukturen aufgefaßt werden kann, durch welche die einzelnen Epitope des Rh-Komplexes gesteuert werden.

Eine systematische Analyse des Aufbaues des Rh-Genkomplexes wird durch den Einsatz des hohen Auflösungsvermögens monoklonaler Antikörper erwartet. Die Reihenfolge der genetischen Informationen auf dem Chromosom wird sich mit Hilfe weiterer polyklonaler Antikörper aus speziellen Immunisierungskombinationen aufschlüsseln lassen.

Eine Kontrolle ist später mit Hilfe geeigneter genetischer Sonden zu erwarten, so daß der direkte Zusammenhang zwischen DNS-Code und Rh-Epitopen eines Tages aufgeklärt sein wird.

Damit werden klassische polyklonale und monoklonale blutgruppenserologische Techniken durch moderne gentechnologische Methoden ergänzt und gemeinsam die tatsächlichen genetischen und phänotypischen Strukturen des Rh-Komplexes offengelegt.

Klassifizierung und Charakterisierung von PI-Mangeltypen mit "stummer Information"

S. Weidinger
Institut für Anthropologie und Humangenetik der Universität,
Richard-Wagner-Str. 10/I, 8000 München 2

Beim Menschen ist das Alpha₁-Antitrypsin (α_1 AT) einer der bedeutendsten Proteaseninhibitoren (PI) im Plasma. Seine wichtigste physiologische Funktion ist die Hemmung leukozytärer Proteasen, insbesondere der Elastase. Ein Mangel dieses Inhibitors geht bei Erwachsenen nicht selten mit einer bronchopulmonalen Krankheit einher; bei Kindern hingegen beobachtet man häufiger eine Assoziation mit infantiler Hepatopathie.

Das am häufigsten vorkommende Defektallel ist PI*Z, welches bei europäischen Bevölkerungen eine Frequenz von 0,01-0,02 erreicht. Außer dem Z-Typ existieren im PI-System mehrere seltenere Mangeltypen (Mmalton, Mprocida, Mheerlen, Mduarte, Mrouen, Mcobalt und Mlike), die einen Plasmaspiegel von <10 % der Norm aufweisen. Kein α_1 AT oder <1 % der Normalkonzentration findet man bei Trägern von sogenannten "stummen" Allelen oder Nullallelen (QOgranite falls, QObellingham, QOhongkong, QObolton, QOmattawa und QOludwigshafen). Die Allelfrequenz dieser seltenen, oft unauffälligen PI M- und PI QO-Mangeltypen wird insgesamt auf etwa 0,001-0,0001 geschätzt. Häufigste Ursache für die Entstehung solcher Mangeltypen sind Punktmutationen und/

oder Deletionen mit Leserasterverschiebung, die zu einem instabilen α 1AT-Molekül führen oder einen vorzeitigen Abbruch in der Biosynthese bewirken.

Die Klassifizierung der PI-Phänotypen erfolgt normalerweise mit der hochauflösenden isoelektrischen Fokussierung im Polyacrylamidgel des pH-Bereichs von 4,2-4,9. Damit lassen sich im hochpolymorphen PI-System die sechs häufigen M-Subtypen (M1, M1M2, M2, M1M3, M2M3 und M3) sowie die meisten genetischen Varianten, von denen heute über 60 bekannt sind, eindeutig bestimmen. Zur sicheren Differenzierung der PI M- und PI QO-Mangeltypen, die in heterozygotem Zustand meist nur geringfügig abgeschwächte Bandenmuster aufweisen und deshalb auch oftmals von Normaltypen schwer zu unterscheiden sind, ist eine DNA-Analyse mit RFLP und/oder PCR-Technik erforderlich. Durch Anwendung dieser Methoden ist es in jüngster Zeit gelungen, die Mangeltypen Mmalton, Mprocidia und QOriedenburg bei Vaterschaftsfällen, in denen eine "stumme Information" aufgrund von entgegengesetzter Reinerbigkeit für wahrscheinlich gehalten wurde, eindeutig zu identifizieren.

ORM1-Polymorphismus: Vergleich von Immunoprint und Lectinoblot

D. Mohren¹, G. Mauff¹, J. Beuth¹, G. Pulverer¹, A. Hoffmann², F. E. Krapf³

1) Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene

2) Klinik und Poliklinik II für Innere Medizin, Universität zu Köln

3) Medizinische Klinik III, Universität Erlangen

Das saure alpha-1-Glykoprotein, auch als Orosomucoid (ORM) bezeichnet, gehört zu den Akute-Phase-Proteinen und besitzt immunmodulatorische Eigenschaften. Es scheint ferner im Verlauf des Systematischen Lupus Erythematoses (SLE) eine Rolle zu spielen. ORM, erstmals 1961 als polymorph beschrieben, wird von zwei unabhängigen Strukturgenen kodiert: ORM1 und ORM2. Am ORM1-Lokus sind drei häufige Allele, *ORM1*F1*, *ORM1*F2*, *ORM1*S*, und mindestens ein seltenes Allele bekannt, am ORM2-Lokus das Allele *A* sowie seltene Allele. Durch den Nachweis des kodominanten Erbgangs ist der ORM1-Polymorphismus auch für Abstammungsgutachten interessant geworden. Neben den überwiegend immunochemischen Nachweisverfahren ist die Eigenschaft der Lektinbindung zur Darstellung von ORM Phänotypen beschrieben worden.

In der vorliegenden Arbeit wurde primär die Anwendung von "Lectinoblots" im Vergleich zum "Immunoprint" mittels isoelektrischer Fokussierung (IFO) bei 262 nichtverwandten Personen aus 132 Abstammungsgutachten untersucht. Darüber hinaus wurden bei 75 SLE-Patienten (Eingangskriterium: antinukleäre Antikörper positiv) die ORM-Phänotypen bestimmt.

Die Untersuchung der ORM-Phänotypen erfolgte in Anlehnung an die von Weidinger *et al.* beschriebene Methode durch PAGE-IFO im Bereich pH 4,7 - 4,9 mit desialisierten Serumproben und anschließend Immunoprint (anti-ORM, Dakopatts, 1:4). Lectinoblots wurden auf Nitrocellulose BA 85 (Schleicher & Schüll) mit den Lektinen Concanavalin A (CON A, Serva), Ricinus communis (RCA, Sigma) und Tricium vulgare (WGA, Sigma) durchgeführt. Die Entwicklung der CON A Blots erfolgte direkt mit Peroxidase VI, RCA und WGA wurden PO-konjugiert eingesetzt.

Aus den Ergebnissen ist zu schließen, daß die verwandten Lektine zur Darstellung des ORM1-Polymorphismus bei genetischen Fragestellungen nicht geeignet sind. Während sich mit CON A (alpha-D-man / alpha-D-glc - spezifisch) ein

polymorphes Bandenmuster im F2-Bereich darstellte, welches aber nicht sicher dem ORM zuzuordnen war, zeigt sich bei RCA (beta-D-gal / D-galNAc - spezifisch ebenso wie Allo A nach Umetso *et al.*) ein Bandenmuster, das man als Summe der Bandenmuster nach CON A und anti-ORM ansehen kann. Nach WGA ((D-glcNAc)₂ / NeuNAc - spezifisch) fanden sich keine Banden. Mittels Immunoprint wurden alle ORM1-Phänotypen, mit Ausnahme des homozygoten F2-Typs gefunden. Die Unterscheidung der Phänotypen F1 und F1F2 betrachten wir allerdings als kritisch, weshalb dieser Differenzierung bei gutachterlichen Fragestellungen besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden muß. Die Verteilung der ORM1-Allele aus der Gutachtenstichprobe ergab für *ORM1*F1* 0,5534, für *ORM1*F2* 0,0344 und für *ORM1*S* 0,4122. Daraus folgt, im Einklang mit anderen Untersuchungen, eine theoretische Ausschlußwahrscheinlichkeit für Nicht-Väter von 22,6 %. Die ORM1-Allelfrequenzen bei den 75 SLE-Patienten wichen mit 0,5867 für *ORM1*F1*, 0,1000 für *ORM1*F2* und 0,3133 für *ORM1*S* signifikant von denen der gesunden Kontrollgruppe aus Gutachtenfällen ab. Der größte Unterschied fand sich für das Vorkommen des ORM1 F2-Allels mit 20 % (SLE) zu 6,9 % (Kontrollgruppe, $p < 0,005$ Fishers exakter Test, Bonferroni-korrigiert). Da scheinbar Unterschiede in der Lektinbindungskapazität der einzelnen ORM1-Alloypen bestehen, ließe sich die immunmodulatorische Funktion des ORM als Erklärung für die hier gefundene Assoziation zur SLE-Erkrankung heranziehen.

Literatur:

Weidinger S., Müller T., Schwarzfischer F., Cleve H., Hum. Genet. (1987) 77: 286-288

Umetso K., Ikeda N., Kashimura S., Suzuki T., Hum. Genet. (1985) 71: 223-224

Zur forensischen Anwendung des A2HS-Polymorphismus

G. Geserick, A. Correns, H. Schröder, P. Otremba,
Institut für Gerichtliche Medizin der Humboldt-Universität,
Hannoversche Str. 6, 1040 Berlin

Während der A2HS-Polymorphismus bisher meist durch Immunoprinting oder durch Immunoblotting nach isoelektrischer Fokussierung (IEF) dargestellt wurde, empfehlen die Autoren eine methodische Variante. Unmittelbar nach IEF wird eine direkte Immunfixation durchgeführt (Gabe des Anti-A2HS von ATAB direkt auf die Geloberfläche, Einwirkung 30 Min.). Nach den Ergebnissen der Verfasser ist diese Darstellung den indirekten Verfahren überlegen, verbraucht allerdings mehr Antiserum und ist von geringerer Empfindlichkeit (bei spurenkundlichen Untersuchungen zu beachten).

In einer Stichprobe der Berliner Bevölkerung ($n = 513$) wurde folgende Verteilung ermittelt: $A2HS*1 = 0.6598$, $A2HS*2 = 0.3392$, $A2HS*3 = 0.0010$. Die Frequenzen sind denen anderer deutscher Populationen sehr ähnlich (vgl. Weidinger u. a. 1984; Mendner und Kühn 1986; Lattke und Schönberger 1988; Luckenbach u. a. 1988). Die von Weidinger u. a. errechnete AVACH in Höhe von 17,8 % ist auch hier zutreffend.

An 129 Mutter-Kind-Paaren wurden keine Abweichungen von der Erbregel festgestellt.

In 156 Paternitätsgutachten wurde die praktische Brauchbarkeit des A2HS-Systems überprüft. Die erhaltenen Vaterschaftsausschlüsse ($15/156 = 9,6\%$) belegen den Wert des Systems. Zu berücksichtigen ist hierbei, daß es sich um ein selektiertes Gutachtenmaterial handelt (es waren bereits Normgutachten ohne Ausschluß bzw. in 2 Fällen mit entgegengesetzter Homozygotie vorausgegangen). 11 der 15 Ausschlüsse wurden in zusätzlichen Systemen bestätigt.

Varianten im Faktor XIII-B-System

H.-J. Leifheit,
Blutspendedienst des Bayerischen Roten Kreuzes,
München

Ein genetisch determinierter Proteinpolymorphismus der B-Untereinheit des menschlichen Gerinnungsfaktors XIII (FXIIB) wurde erstmals von Board 1980 mittels Agarose Gelelektrophorese und Immunfixation beschrieben. Das postulierte Modell mit den drei häufigen Allelen FXIIB*1, B*2 und B*3 konnte von anderen Autoren bestätigt werden.

Zur Differenzierung seltener Varianten erwies sich die isoelektrische Fokussierung (IEF) als nützlich. Eine erhebliche Verbesserung des Auflösungsvermögens der IEF wird durch die Verwendung immobilisierter pH-Gradienten erreicht. Dies ist einerseits für die Trennung der Banden von B1 und B2, als auch für die Differenzierung neuer Varianten von Bedeutung. Eine Darstellung des FXIIB-Systems aus Plasmaproben, ohne langwierige Konzentrierungsschritte, ermöglicht die Kombination der IEF mit einem Diffusionsblot und der Verwendung eines Dianisidine-Visualisierungsverfahrens.

Mit den Referenzproben FXIIB 17-1, 18-1 und 20-3 von Dr. Dykes*, USA, wurden unsere Varianten überprüft. Die Allelprodukte B*17 und B*18 zeigen eine Hauptbande zwischen B*6 und B*4, FXIIB*20 liegt zwischen B*4 und B*3.

Es konnten in der süddeutschen Bevölkerung neben den drei häufigen Allelen die Varianten FXIIB*4 (4-1, 4-2, 4-3), B*6 (6-2), B*20 (20-1) und eine weitere Variante, zwischen B*20 und B*3 gelegen und mit B*25 bezeichnet, gefunden werden. Das neue Allel FXIIB*25 war sowohl bei der Mutter als auch bei ihrem Kind in der Phänotypenkonstellation FXIIB 25-1 nachweisbar.

Die Untersuchung von 2.424 nicht verwandten, gesunden Probanden aus dem süddeutschen Raum ergab folgende Verteilung der Allelfrequenzen: FXIIB*1 = 0.7603, B*2 = 0.0815, B*3 = 0.1549, B*4 = 0.0023, B*6 = 0.0004, B*20 = 0.0002 und B*25 = 0.0002.

Die aus den Allelfrequenzen errechnete isolierte, allgemeine Vaterschaftsausschlußchance (AVACH) hat einen Wert von 22,35 %.

Literatur:

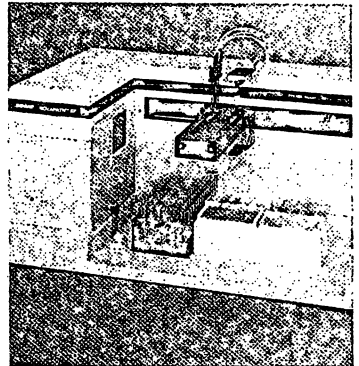
Board P. G. (1980) Am. J. Hum. Genet. 32: 348-353.

Dykes D. D., Graham K., Johnson K., Miller S., Mount C., Polesky H. (1988) Advances in Forensic Haemogenetics 2, Ed. W. R. Mayr, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 125-132.

Leifheit H.-J., Cleve H. (1988) Electrophoresis 9: 426-429.

*Ich danke Dr. Dale Dykes für die Überlassung der Referenzseren

NovaPath SP



der ideale Pipettierautomat für Ihr Labor

- Simultaner Flüssigkeitstransfer von 4 Patientenproben
- Frei programmierbar
- Ausgezeichnete Präzision
- Keine Proben-Verschleppung
- Einfache Bedienung



BIO-RAD Laboratories GmbH
Diagnostica
Heidemannstr. 164
8000 München 45
Tel. (0 89) 31 88 41 40